Med 154

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Hamburg
Direktor: Professor Dr. Dr. h. c. Krauspe

Beitrag zur Histochemie der Zahnentwicklung

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Detlef Schlorf
aus Hamburg

Hamburg 1961

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Hamburg
Direktor: Professor Dr. Dr. h. c. Krauspe

Beitrag zur Histochemie der Zahnentwicklung

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Detlef Schlorf
aus Hamburg

Hamburg 1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität ~~Hamburg~~
am: 28.7.1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Dekan: Professor Dr. R. Pulvôt

Referent: Priv. Doz. Dr. Pliess

Korreferent: Prof. Dr. Kuaas

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Tabelle I: Literaturergebnisse	2
Material und Methodik	3
Ergebnisse	5
Tabelle II: Eigene Befunde	11
Diskussion	12
Tabelle III: Schema der Inoisorbasis	18
Zusammenfassung	19
Literaturverzeichnis	20
Danksagung	29
Lebenslauf	29

BEITRAG ZUR HISTOCHEMIE DER ZAHNENTWICKLUNG

Einleitung

Die bei der Zahnentwicklung im Rahmen der biochemischen Veränderungen auftretenden Stoffe und Fermente lassen sich zum Teil histochemisch nachweisen. Dadurch ist es bis zu einem gewissen Grade möglich, einen Rückschluß auf Zusammenhänge zwischen dem Fermentstoffwechsel und den spezifischen Leistungen der Zahngewebe zu ziehen. Hier liegen bereits verschiedene Untersuchungen vor (Burstone, Sognnaes, Avery, Poole, Bevelander, Wislocki, Naujoks, Verne, Irving, Dalcq, Harris, Fullmer, Camanni, Greep, Albert). (Vergleiche Tabelle I).

Unsere Aufgabe sahen wir darin, an einem einzigen Objekt eine Reihe von Ferment- und Stoffnachweisen durchzuführen. Dazu benutzten wir die Incisorbasis der Ratte, weil hier Proliferation, Differenzierung der Gewebe, Sekretionsleistung und Mineralisation auf engem Raum beieinanderliegen.

TABELLE I

Autoren	Reaktion	Pulpa	Odonto-blasten	Prae-dentin	Dentin	Stratum intermed.	Schmelz-epithel	Amelo-blasten	Schmelz-matrix
BURSTONE (Mäusemolaren)	Esterase	+			+				+
	alk. Phosphatase	+	+						
SOGNNAES E (Menschen-, Rhesusaffenzähne, Rattenincisor)	alk. Phosphatase		+	+				+	+
	Glykogen		+					+	
	Glykoproteide		+		+			+	+
	SH-Gruppen	+	+	+				+	+
	Disulfidbrücken								+
AVERY, et. al. E (Menschenzähne)	spez.Cholesterase	+		+					
	unsp.Cholesterase	+		+					
PUGH, et al. (Hamstermolaren)	Esterase				+				
BURSTONE (Hamstermol.)	alk. Phosphatase	+				+			
BURSTONE (Hamster-, Ratten-, Mäusezähne)	saure Phosphatase				+				
POOLE (Eidechsenkeime)	alk. Phosphatase	+			+		+		+
BEVELANDER, et al. (Schweinesembryonen)	Mucopolysacchar.	+	+	+		+		+	+
WISLOCKI, et al. (Menschen-, Rhesusaffen-, Rattenzähne)	alk. Phosphatase	+	+	+					+
	Glykogen	+	+			+	+	+	
	Glykoproteine		+		+				
	saure Mucopolys.				+				+
	SH-Gruppen								+
	Lipoide	+	+					+	+
NAUJOKS E (Menschenzähne)	alk. Phosphatase	+	+						
	saure Phosphatase	+						+	
	SH-Gruppen		+	+				+	
	Ascorbinsäure			+				+	
VERNE, et al. (Rattenzähne)	Metachromasie	+	+	+	+	+		+	
	Polysaccharide								+
IRVING E(Rattenincis.)	Sudanschwarz		+					+	
DALCQ, et al. (Hamster-, Rattenföten)	alk. Phosphatase	+	+				+		
	Glykogen						+		
	Ribonucleinsäure		+				+		
VERNE, et al. (Rattenzähne)	Toluidinblau	+	+	+		+			+
	Ribonucleinsäure		+			+		+	
	alk. Phosphatase	+	+			+		+	
	Mucopolysacchar.		+	+		+			+
HARRIS (Rattenzähne)	alk. Phosphatase	+	+	+					
FULMER, et al. E (Menschenzähne)	Proteine								
	saure Mucopolys.	+		+	+	+		+	+
BEVELANDER, et al. (Schweineembryonen)	alk. Phosphatase		+					+	
CAMANNI (Ovis aries)	Polysaccharide		+	+		+		+	
GREEP, et al. (Rattenincisor.-molar	alk. Phosphatase	"odontogene Gewebe"							
ALBERT, et al. (Rattenincisor.-molar)	alk. Phosphatase					+		+	

E = entkalkt

Material und Methodik

Jungerwachsene Ratten überwiegend männlichen Geschlechtes mit einem Gewicht von 15o - 2oo g werden durch Äthernarkose getötet. Beide Unterkieferhälften werden herauspräpariert und unmittelbar coronal von der Incisorbasis mittels einer kleinen Kreissäge quer durchtrennt. Darauf wird die Incisorbasis entweder frisch verarbeitet, indem die alveoläre Kortikallamelle unter sorgfältiger Schonung der periodontalen Gewebe abgespalten wird; oder die Incisorbasis wird nach unterschiedlicher Fixierung mit 1o%igem, neutralem Formalin, Formolalkohol oder Aceton in Gelatine bzw. Paraffin eingebettet. Wir führten folgende histochemische Reaktionen durch:

I. Fermenthistochemische Nachweise

a) Nativpräparate:

1) Peroxydase (Methode von Robertis und Grasso nach Pearse)

2) Cytochrom- c- Oxydase (G-Nadi-Reaktion)

3) Succinodehydrogenase (Pearson)

b) Fixierte Präparate:

4) Alkalische Phosphatase (Gomori-Fredericson) an entkalkten und nicht entkalkten Paraffinschnitten nach Fixierung in 1o%igem, neutralem Formalin, Formolalkohol (1:9) oder Aceton; entkalkte Präparate nach Fixierung in Formol und Gelatineeinbettung. Kontrollen: Kochen; Fortlassen des Substrates.

5) Saure Phosphatase (Gomori) wie alkalische Phosphatase. Außerdem Nachweis an nicht entkalkten Präparaten nach Fixierung in 1o%igem, neutralem Formalin und Gelatineeinbettung.

6) Unspezifische Esterase (Gomori) wie alkalische Phosphatase.

II. Stoffnachweise

7) SH-Gruppen (Frederic-Chèvremont nach Pearse) Material wie bei alkalischer Phosphatase.

8) Polysaccharide: Material wie bei alkalischer Phosphatase. MacManus-Färbung (Pearse). Astrablau-Hotchkiss- und Astrablau-von-Gieson-Färbung (Pioch).

9) Fettfärbungen: nach Fixierung von entkalktem und nicht entkalktem Material in 1o%igem, neutralem Formalin und Gelatineeinbettung: Scharlach-Diacetin; Sudan III; Sudanschwarz (Romeis).

1o) Metachromasienachweis: Toluidinblau-Färbung (Pearse) an dem Material wie bei alkalischer Phosphatase.

Ergebnisse

I. Fermenthistochemische Untersuchungen (Vergl. Tabelle II)

1) Peroxydase

Nur vereinzelt positive Granula in großen verzweigten Zellen, die im geringen Abstand vom Odontoblastensaum in der lingualen Basalpulpa liegen.

2) Cytochrom-c-Oxydase

Positiv sind die Zellen der lingualen Basalpulpa, die auch Peroxydasereaktion ergeben. Inkonstant ist dagegen eine feinstkörnige Positivität der labialen und lingualen Odontoblastenreihe.

3) Succinodehydrogenase

Mit Beginn der Schmelzbildung zeigen die Ameloblasten im retronucleären, basalen Zellabschnitt Aktivität, die kronenwärts sich gradmäßig verstärkt. In der gleichen Höhe wie bei den Ameloblasten zeigt auch das äußere Schmelzepithel und der sich kronenwärts daraus entwickelnde Papillarkörper eine zunehmende Aktivität an Succinodehydrogenase. Im Stratum intermedium ist dagegen nur in verschwindend geringem Maße Aktivität nachweisbar. Reichliche Aktivität findet sich im Cytoplasma der mit der Bildung von Dentinmatrix beschäftigten Odontoblasten an der labialen und lingualen Zahnseite. Auch einige indifferente Pulpenzellen der Zahnbasis zeigen geringe Aktivität.

4) Alkalische Phosphatase

Am Schmelzorgan zeigen zuerst die Zellen des Stratum intermedium in Höhe der Differenzierungszone der Präameloblasten eine deutliche Aktivität, die sich kronenwärts verstärkt. Coronal von der ersten Aktivität des Stratum intermedium beginnt auch eine zunehmende Aktivität im Papillarkörper des Schmelzorgans.

Das mesenchymale Zahnbildungsgewebe zeigt bei einer Inkubationszeit, die das angegebene Verteilungsmuster der Aktivität am Schmelzorgan bereits deutlich vorbringt, noch keine bemerkenswerte Aktivität. Nach längerer Inkubation sind die Odontoblasten negativ. Dagegen findet sich eine Aktivität in den Abschnitten der basalen Pulpa, die in unmittelbarer Nachbarschaft der mit Dentinapposition beschäftigten Odontoblasten liegen. Coronal davon verstärkt sich die Aktivität und konfluiert quer durch die Pulpa in bogenförmigem Verlauf.

Dieses Ergebnis ist nur an unentkalkten Präparaten (Paraffineinbettung) nach Fixierung in Formalin, deutlicher nach Fixierung in Formolalkohol zu erheben. Acetonfixierung führt zum hochgradigen Aktivitätsverlust.. Dasgleiche ist bei den entkalkten Präparaten der Fall, die außerdem ein anderes Verteilungsmuster der Reaktion bieten: die Aktivität der positiven Strukturen ist geringer geworden, während dann auch Odontoblasten und Ameloblasten positiv sind. Es handelt sich offenbar um Diffusionsartefakte.

5) Saure Phosphatase

An den Paraffinschnitten und auch an den entkalkten formolfixierten und in Gelatine eingebetteten Präparaten fällt

die Reaktion völlig aus.
Dagegen ergibt sich an den formalinfixierten, nicht entkalkten Präparaten nach Gelatineeinbettung eine sehr charakteristische Verteilung der Aktivität: Etwas basal von der Zone der beginnenden Prädentinverkalkung zeigt die der Präameloblastenreihe anliegende äußere Schicht des Prädentins Positivität in einer schmalen Zone, deren Begrenzung gegen die pulpenwärts liegende Schicht des Prädentins unregelmäßig gezackt verläuft. Die Aktivität bleibt auch im Bereich des verkalkenden Dentins erhalten, bis sie in der Zone einer größeren Schmelzdicke aufhört. Am lingualen Prädentin wird ebenfalls die periphere Schicht kurz vor der Verkalkung positiv. Außerdem entsteht hier der Eindruck, daß auch das anliegende odontogene Epithel Aktivität an saurer Phosphatase aufweist.

6) Unspezifische Esterase
Die unentkalkten Paraffinschnitte ergeben eine nur sehr geringgradige Aktivität der Odontoblasten. Dagegen ist im Bereich des verkalkten Dentins labial und lingual deutliche Esteraseaktivität nachzuweisen, die auch in die Dentinkanälchen und in die Schmelzprismen lokalisiert werden kann.

II. Stoffnachweise
7) SH-Gruppen
Eine intensiv positive Linie merkiert den Grenzbereich zwischen der Prädentin- und der verkalkten Dentinschicht. Intensiv diffus positiv sind die Schmelzprismen sowie die Zementsubstanz im lingualen Zahnbereich. Sehr geringe Positivität zeigen die Ameloblasten in ihrem zum Schmelz

hin gerichteten Zellende.
Die eindeutigsten Befunde ergeben sich nach Formolfixierung am nicht entkalkten Material. Gelatine- oder Paraffineinbettung modifizieren das Ergebnis nicht.

8) Polysaccharide

a) MacManus-Färbung

Die besten Resultate ergeben sich nach Formolfixierung am unentkalkten Material nach Gelatine- oder Paraffineinbettung Nach Fixierung in Formolalkohol ist die Färbund deutlich schwächer, nach Acetonfixierung nicht brauchbar. Die Entkalkung verschlechtert das Ergebnis in mäßigem Grade.
Eine intensive Färbund zeigt die Grenzlinie zwischen den Präameloblasten und den apolaren Odontoblasten an der labialen Basis. Im Dentinmantel ergibt sich eine intensive rote Linie im Bereich der Grenzschicht zwischen Prädentin und Dentin, eine weniger intensive Färbund zeigt das Prädentin. Die Odontoblasten sind im Cytoplasma stark rot gefärbt. Die Zellen der Basalpulpa sind schwach rot gefärbt, desgleichen die dazwischen liegenden Fasern. Auch die Interzellularsubstanz zeigt angedeutete rötliche Färbung.
Am Schmelzorgan ist der Zellkörper der Ameloblasten schwach rot tingiert mit Ausnahme des retronucleären, basalen Zellbereiches. Die Interzellularsubstanz der Ameloblasten ist intensiv rot, die interprismatische Substanz des Schmelzes weniger stark rot gefärbt.

b) Astrablau-Hotchkiss-Färbung

Verwertbare Ergebnisse finden sich am nicht entkalkten Material nach Formalinfixierung un Paraffineinbettung.

Von den Bauelementen, die bei der MacManus-Färbung positiv sind, ergeben die folgenden Färbung mit Astrablau: Das Fasernetz und die Grundsubstanz der Basalpulpa; das Prädentin; die Grenzlinie zwischen Odontoblasten und Prädentin sowie zwischen Prädentin und Dentin; die Tomes'schen Fasern im verkalkten Dentin.

c) Astrablau-vanGieson-Färbung

Abgesehen von einer allgemeinen Verstärkung der Astrablau-Färbung modifizieren Fixierung und Einbettung das Ergebnis in gleicher Weise wie bei der Astrablau-Hotchkiss-Färbung. Das Ergebnis entspricht im wesentlichen dem bei der Astrablau-Hotchkiss-Färbung. Besonders intensiv treten die beiden Grenzlinien am Dentinmantel hervor. Die Grenze zwischen Odontoblasten und Prädentin wird allerdings erst dort scharf begrenzt und sehr deutlich, wo die Odontoblasten die Verkalkungsfunktion aufnehmen. In der ersten basalen Prädentinzone ist diese Linie nur schwach tingiert. Der gezackte Verlauf in diesem Bereich entsteht dadurch, daß blau gefärbte Bindegewebsfasern in das Prädentin aufgenommen werden. Gegenüber der Astrablau-Hotchkiss-Färbung ergibt sich eine Blaufärbung am Schmelzorgan. Diese ist deutlich ausgeprägt im Cytoplasma der Schmelzpulpa und des äußeren Schmelzepithels sowie in der Interzellularsubstanz der Schmelzpulpa. Coronalwärts nimmt die Färbung im Papillarkörper ab. Auch das Stratum intermedium ist nur sehr schwach blau gefärbt.

9) Fettfärbungen

a) Scharlach-Diacetin-Färbung: kein positives Ergebnis.

b) Sudan-III-Färbung: kein positives Ergebnis

c) Sudanschwarz-Färbung: im labialen und lingualen Prodontoblastenbereich ist das Cytoplasma der Pulpenzellen deutlich homogen gefärbt. Sehr deutlich tritt auch die Grenzlinie zwischen dem inneren Schmelzepithel und den Prodontoblasten hervor. In dem ersten abgelagerten Prädentin sind die Fortsätze der Odontoblasten durch ihre Schwarzfärbung erkennbar. Weiter coronal nimmt eine Schwarzfärbung des gesamten Prädentins zu. Die peripheren Odontoblasten zeigen deutliche Positivität des Zellkörpers. Am Schmelzorgan ist die Basalmembran des inneren Schmelzepithels und der Präameloblasten als feine, schwarz gefärbte Linie erkennbar. Die Zellen des Papillarkörpers sind etwas diffus angefärbt. Das Stratum intermedium erscheint negativ. In der Zone, in der die ersten Odontoblasten die Prädentinapposition aufnehmen, zeigen die gegenüberliegenden Präameloblaste retronucleär einen kugeligen Zellbezirk, der coronalwärts zunehmende Färbbarkeit mit Sudanschwarz ergibt. In der eben genannten Zone wird auch der periphere Zellkörper einiger Präameloblasten feinkörnig oder homogen schwärzlich tingiert. In der Zone der Schmelzapposition sind alle Ameloblasten homogen angefärbt.

10) Metachromasienachweis mit der Toluidinblau-Färbung

Das beste Ergebnis zeigt nicht entkalktes Material nach Formolfixierung und Paraffineinbettung.

Intensive Metachromasie ergibt sich an dem Fasernetz der Basalpulpa, weniger deutlich im Bereich des Prädentins.

TABELLE II

Eigene Befunde

Reaktion	Basalpulpa	Coronalpulpa	Odontoblasten	Praedentin	Dentin	Tomes'sche Fasern im Dentil	basales Schmelzepithel	Papillarkörper	Stratum intermedium	Praeameloblasten	Ameloblasten	Schmelzmatrix
Peroxydase	(+)											
Cytochrom-c-Oxydase	(+)		(+)									
Succinodehydrase			+					+			++	
Alk. Phosphatase		+						+	++			
Saurer Phosphatase				(+)	+							
Esterase					+							+
SH-Gruppen					+							+
Neutrale Mucopolys.	(+)	+	++	(+)	+			(+)			+	+
Saure Mucopolys.	+			+		+	+	+	(+)			
Metachromasie	+			+								
Sudanschwarz			(+)					(+)		+	+	

Diskussion

Die Ergebnisse unserer histochemischen Untersuchungen (Tabelle II) können in einem Schema zusammengefaßt werden (vergl. Tabelle III). Es ist nur die labiale, schmelzüberzogene Seite des Incisors dargestellt. Die Zahnbasis liegt links. In der Interzellularflüssigkeit und im Bindegewebsfasernetz zwischen den sternförmig verzweigten, in ständiger Proliferation begriffenen Zellen der mesenchymalen Basalpulpa lassen sich reichliche Mengen saurer Mucopolysaccharide nachweisen. Mit Toluidinblau ergibt sich Metachromasie. Einige der Zellen zeigen Aktivität an Oxydase und Peroxydase alle Zellen sind sudanophil. Weiter kronenwärts wird die Pulpa positiv an alkalischer Phosphatase (was im Schema durch die gestrichelte Linie ausgedrückt wird), und der Gehalt saurer zugunsten neutraler Mucopolysaccharide nimmt stark ab.

Der Differenzierungsvorgang zu Odontoblasten ist mit sehr auffälligen histochemischen Veränderungen verbunden. Im Bereich der Grenzlinie zwischen Proodontoblasten und innerem Schmelzepithel treten neutrale Mucopolysaccharide auf. Mit Beginn der Prädentinbildung wird die histochemische Differenzierung der Odontoblasten sehr ausgesprochen. Sie zeigen reichlichen Gehalt an neutralen Mucopolysacchariden, geringe Sudanophilie, mäßige Aktivität an Succinodehydrogenase und geringe Aktivität an Esterase und Oxydase. Alkalische Phosphatase ist histochemisch in den Odontoblasten nicht nachweisbar. Die Odontoblastenfortsätze im Dentin enthalten im Gegensatz zum Zellkörper saure Mucopolysaccharide sowie Esterase.

Das Prädentin ergibt Nachweis von sauren Mucopolysacchariden und Metachromasie. Etwas basal von der Zone der beginnenden Prädentinverkalkung tritt in einem schmalen Saum gegenüber den Präameloblasten Aktivität an saurer Phosphatase auf. Mit der Prädentinverkalkung treten zwei Linien verstärkter Anhäufung saurer Mucopolysaccharide hervor: Einmal an der Grenze zwischen Odontoblasten und Prädentin, zum anderen im Grenzbereich zwischen Prädentin und Dentin. Die letztgenannte Linie zeigt auch reichlichen Gehalt an freien SH-Gruppen.

Im verkalkten Dentin finden sich Esterase, saure Phosphatase und neutrale Mucopolysaccharide.

Das basale Schmelzorgan enthält in den Zellen der Schmelzpulpa und des äußeren Schmelzepithels sowie in der Interzellularsubstanz reichlich saure Mucopolysaccharide, die auch im coronal anschließenden Papillarkörper, allerdings in geringerem Grade, nachweisbar sind. Im Papillarkörper findet sich ferner Aktivität an alkalischer Phosphatase und Succinodehydrogenase sowie geringe Sudanophilie.

In der Zone, in der die Präameloblasten die Differenzierung von Odontoblasten induzieren, tritt im angrenzenden Stratum intermedium starke Aktivität an alkalischer Phosphatase auf. Die fortschreitende Differenzierung der Präameloblasten drückt sich histochemisch darin aus, daß retronucleär ein sudanophiler Körper und im restlichen Zellkörper feinste sudanophile Tröpfchen auftreten. Mit der Aufnahme der Schmelzsekretion wird eine starke Aktivität an Succinodehydrogenase im retronucleären, basalen Zellabschnitt der Ameloblasten nachweisbar. Dieser Befund wird gestützt durch Untersuchungen von Reith, der gerade in diesem basalen Zellende elektronenmikroskopisch dicht gepackt Mitochondrien

nachgewiesen hat. Außerdem treten neutrale Mucopolysaccharide in geringer Menge im Zellkörper, viel deutliche in der Interzellularsubstanz der Ameloblasten auf.
In den Schmelzprismen finden sich reichliche Mengen freier SH-Gruppen und Aktivität an Esterase. Die interprismatische Substanz enthält neutrale Mucopolysaccharide.

Bei einem Vergleich der eigenen Ergebnisse mit Literaturbefunden ergibt sich folgendes Bild (Vergleiche Tabelle I und II):
Die alkalische Phosphatase wurde durch zahlreiche Untersucher (Burstone, Sognnaes, Poole, Wislocki, Naujoks, Verne, Harris, Bevelander, Greep, Albert) in den Zahngeweben nachgewiesen. Ein Teil der Autoren benutzte entkalktes Material (Sognnaes, Naujoks, Greep). Nach unseren Untersuchungen kommt es dadurch zu Diffusionsartefakten. In diesem Sinne könnte der Nachweis von alkalischer Phosphatase bei der Ratte in den Odontoblasten (Sognnaes, Wislocki, Dalcq, Verne, Harris), im Prädentin und in der Schmelzmatrix (Sognnaes, Wislocki) erklärt werden. Die Angaben von Greep sind zu ungenau ("odontogene Gewebe"). Bei der Lokalisation der alkalischen Phosphatase in der Zahnpulpa erhielten wir gleichfalls andere Ergebnisse als die genannten Autoren. Aktivität an alkalischer Phosphatase im Stratum intermedium wurde entsprechend unseren Befunden durch Burstone (Hamstermolaren), Verne und Albert angegeben. Abweichende Angaben bei menschlichen Zähnen und anderen Tierarten könnten auf Speziesunterschieden beruhen. Doch möchten wir auch hier in erster Linie an methodische Ursachen denken.
Die saure Phosphatase konnten wir entsprechend den Befunden von Burstone im Dentin der Rattenzähne nachweisen. Naujoks

fand dagegen Aktivität von saurer Phosphatase in der Pulpa von entkalkten Menschenzähnen. Man könnte auch hier an ein Diffusionsartefakt denken.

Esteraseaktivität fanden Burstone (Mäuseemolaren) und Pugh (Hamstermolaren) wie wir im Dentin. Entgegen unseren Befunden wies Burstone Esterase in der Pulpa von Mäusemolaren nach. Fraglich ist die Verwertbarkeit von Angaben über die Anwesenheit von SH-Gruppen in Pulopa (Sognnaes) und Odontoblasten (Sognnaes; Naujoks bei Menschenzähnen), da entkalktes Material verwandt wurde. Übereinstimmung mit unseren Befunden besteht im Nachweis von SH-Gruppen in der Schmelzmatrix (Sognnaes, Wislocki), in den Ameloblasten (Naujoks bei Menschenzähnen) und im Prädentin (Naujoks, Sognnaes), wobei zu beachten ist, daß in unseren Präparaten die positive Reaktion besonders im Grenzbereich zwischen Prädentin und verkalktem Dentin auftritt.

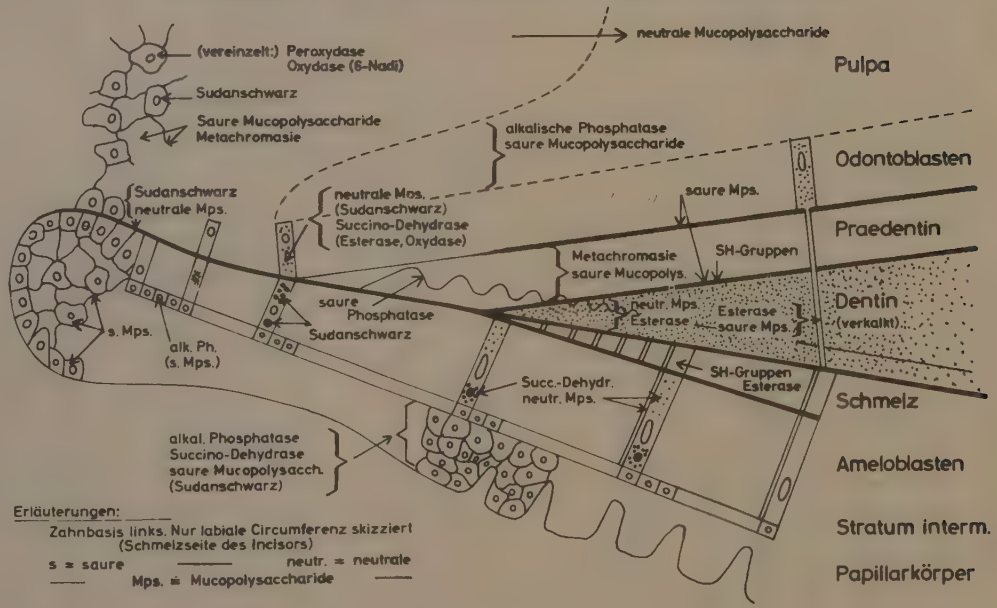
Mucopolysacchardie wurden ebenfalls durch mehrere Untersucher (Bevelander, Wislocki, Verne, Fullmer, Camanni) nachgewiesen. Verne fand Mucopolysaccharide im Stratum intermedium, was auch durch Bevelander (Schweineembryonen), dem unsere Ergebnisse am nächsten kommen, durch Fullmer (Menschenzähne) und Camanni (Föten von Ovis aries) bestätigt wird. Bei uns findet sich nur eine sehr schwache Färbung im Stratum intermedium. Fullmer wies an entkalkten Menschenzähnen saure Mucopolysaccharide in den Ameloblasten nach, wo wir neutrale Mucopolysaccharide fanden. Ebenso beschreibt Wislocki saure Mucopolysaccharide im Dentin. Unsere Untersuchungen ergeben dort neutrale Mucopolysaccharide. Entsprechend unseren Befunden wiesen Bevelanden (Schweineembryonen) und Fullmer (entkalkte Menschenzähne) Mucopolysaccharide in der Pulpa nach. Übereinstimmung zwischen

den Ergebnissen von Bevelander, Verne, Camanni und unseren Befunden besteht auch in den Angaben über Anwesenheit von Mucopolysacchariden in den Odontoblasten und im Prädentin, während Fullmer positive Ergebnisse nur im Prädentin angibt. Mucopolysaccharide in der interprismatischen Substanz des Schmelzes finden außer Fullmer und Camanni alle genannten Autoren entsprechend unseren Befunden.
Der Nachweis von Metachromasie ist von uns nur in orientierender Weise durchgeführt worden. Färbungen mit abgestuftem pH stehen noch aus. Im allgemeinen besteht Übereinstimmung mit den Angaben von Verne und Mitarbeitern.
Positive Ergebnisse der Sudanschwarzfärbung fand Irving lediglich in den Odontoblasten und Ameloblasten. Wislocki wies Lipoide in der Pulpa, in den Odontoblasten und Ameloblasten und im Gegensatz zu uns auch in der Schmelzmatrix nach.

Die Bedeutung der histochemischen Veränderungen für die einzelnen Schritte der komplizierten Zahnentwicklung läßt sich noch nicht endgültig übersehen. Wir möchten hier jedoch auf drei Vorgänge aufmerksam machen:
1) In der Präameloblastenzone, in der entscheidende induktive Einwirkungen auf das Zahnmesenchym erfolgen, tritt alkalische Phosphatase im Stratum intermedium auf. Dieser Zellschicht dürfte eine Bedeutung für die Induktionsleistung der Präameloblasten zukommen.
2) Der Papillarkörper des peripheren Schmelzorgans zeigt eine so weitgehende histochemische Differenzierung, daß man darauf auf eine wichtige Rolle in der Vorbereitung der Schmelzablagerung durch die Ameloblasten schließen könnte.
3) Die Verkalkung von Schmelz und Dentin steht offenbar

unter enzymatischem Einfluß. Dabei scheint die alkalische Phsophatase in der Pulpa lediglich für die Bereitstellung von Phosphationen eine Rolle zu spielen. Bei der aktuellen Verkalkung der Prädentinmatrix sind die Odontoblastenfortsätze mit ihrer Aktivität an Esterase und saurer Phosphatase und mit ihrem Gehalt an sauren Mucopolysacchariden von großer Bedeutung. Das Verhalten der Metachromasie und die Verteilung saurer bzw. neutraler Mucopolysaccharide entsprechen einer Umladung der Prädentinmatrix, die eine wesentliche Vorbedingung für die Mineralisation ist. Die Anreicherung freier SH-Gruppen in der aktuellen Verkalkungslinie des Dentins könnte im Sinne einer Enzymaktivierung gedeutet werden.

Histochemie der Incisorbasis der Ratte



Zusammenfassung

Zum Nachweis von Fermenten und Stoffen, die bei der Zahnentwicklung auftreten, wurden verschiedene histochemische Reaktionen durchgeführt. Als Objekt diente die Basis des Rattenincisors, die in ständiger Proliferation, Differenzierung, Sekretion und Mineralisation begriffen ist. Die Ergebnisse sind sehr von der Art der Vorbehandlung abhängig. So führt eine Entkalkung zu Aktivitätsverlust und zu beträchtlichen Diffusionsartefakten, besonders bei Enzymen.

Unsere Befunde ergänzen eine Reihe von Einzelangaben und zusammenfassenden Darstellungen der Zahnhistochemie, etwa die von Wislocki, Naujoks und Sognnaes. Erstmalig wurden von uns Succinodehydrogenase in den Ameloblasten, den Odontoblasten und im Papillarkörper des Schmelzorgans sowie Oxydase und Peroxydase in Zellen der Basalpulpa nachgewiesen.

Literaturverzeichnis

Albert, D.L., J.E.Lindner
The preparation of sections of mineralized tissue suitable for the demonstration of alkaline phosphatase.
Stain Techn. 35, 5 (196o)

Avery, J.K., R. Rapp
Demonstration of cholinesterase in teeth.
Stain Techn. 33, 31 (1958)

Barnett, R.J., A.M. Seligman
Histochemical demonstration of proteinbound sulfhydryl groups.
Sience, 116, 323 (1952)

Barnett, R.J., R.F. Sognnaes, G.Pettengill
Sulfhydryl and disulfide reactions in epidermal derivatives.
In preparation 1955

Beams,H.W., R.L. King
The Golgi apparatus in the developing tooth with special reference to polarity.
Anat. Record, 1o8, 1 (195o)

Belanger, L.F.
Autoradiographic visualization of in vitro exchange in teeth bones, and other tissues under various conditions.
J. Dent. Res. 32. 168 (1953)

Bevelander, G., P.L. Johnson
The localization of polysaccharides in developing teeth.
J. Dent. Res. 34, 122 (1955)

Bevelander, G., P. L. Jonson
Odontoblasts and Dentinogenesis (Ahistochemical study)
J. Dent. Res. 25, 381 (1946)

Bevelander, G., P.L. Johnson
A histochemical study of the development of membrane bone

Anat. Record, 1o8, 1 (195o)

Bevelander, G., P.L. Johnson
The histochemical localization of alkaline phosphatase in the developing tooth.
J. Cell. and Comp. Phydio. 26, 25 (1945)

Bevelander, G., P.L. Johnson
Alkaline phosphatase in amrlogenesis.
Anat. Record 104, 125 (1949)

Bruckner, R,J.
Alkaline phosphatase in pulpal tissue of human teeth.
J. Dent. Res. 28, 55 (1949)

Burstone, M.S.
Esterase activity in developing bones and teeth.
Arch. Path. 63, 164 (1957)

Burstone, M.S.
The relationship between fixation and techniques for the histochemical localization of hydrolytic enzymes.
J, Histochem. Cytochem. 6, 322 (1958)

Burstone, M.S.
Acid phosphatase activity of calcifying bone and dentin matrices.
J. Histochem. Cytochem. 7, 147 (1959)

Burstone, M. S.
Histochemical deminstration of acid phosphatase activity in osteoclasts.
J. Histochem. Cytochem. 7, 39 (1959)

Camanni, F.
Studio istoradiografico et istichimico di alcuni stadi dell' istogenesi del dente.
Boll. Soc. ital. di Biol. sperimentale 32, 128 (1956)

Dalcq, A.M., J. Mulnard
Localization de la phosphatase alcaline dans les ébauches dentaires des rongeurs.
C. rend. Soc. Biol. (Paris) 147, 2040 (1953)

Dalcq, A.M.
Ribonucléines et polysacchrides dans les ébauches dentaires des rongeurs.
C. rend. Soc. biol. (Paris) 147, 2038 (1953)

Elftman, H.
Effects of fixation in lipoid histochemistry.
J. Histochem. Cytochem. 6, 317 (1958)

Egyedi, H.
Experimental basis of the glycogen theory of enamel caries.
Dental Items of Interest. 75, 971 (1953)

Engel, M.B.
Glycogen and carbohydrat-protein complex in developing teeth of the rat.
J. Dent. Res. 27, 681 (1948)

Engel, M.B., W.J. Furuta
Histochemical studies of phosphatase distribution in developing teeth.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 50, 5 (1942)

Follis, R.H., Jr., M. Berthrong
Histochemical studies on cartilage and bone.
I. Normal pattren.
Bull. Johns Hopkins Hosp., 85, 281 (1949)

Fredericson
Nachweis der alkalischen Phosphatase.
Acta Anat. 26, 246 (1956)

Friede, R.
Eine histochemische Reaktion zum Nachweis von Phosphorylase mit besoderer Berücksichtigung des Nervensystems.
Archiv Psychiatrie u. Z. ges. Neurol. 195, 325 (1956)

Fullmer, H.M.
Histochemical protein reactions in human developing teeth.
Laborat. Invest. 7, 48 (1958)

Fullmer, H.M., N. Alpher
Histochemical polysaccharide reactions in human developing teeth.
Laborat. Invest. 7, 163 (1958)

Gomori, G.
Microscopic Histochemistry.
The University of Chicago Press, 1952

Gomori, G.
Calcification and phosphatase.
Am. J. Path. 19, 197 (1943)

Greep, R.O., C.J. Fischer, A. Morse
Alkaline phosphatase in odontogenesis and its histochemical demonstration after demineralization.
J. Am . Dent. Assoc. 36, 427 (1948)

Greep, R.O., C.J. Fischer, A. Morse
Histochemical demonstration of alkaline phosphatase in decalcified dental and osseous tissues.
Science 1947, 666

Harris, E.S.
The sites of alkaline phosphatase in dentinogenesis.
Anat. Record 107, 105 (1950)

Heller-Steinberg, M.
Ground substance, bone salts and cellular activity in bone formation and destruction.
Am. J. Anat. 89, 347 (1951)

Hess, W.C., A.A. White
A simplified method for the determination of citric acid in dentin and bone.
J. Dent. Res. 34, 462 (1955)

Horowitz, N.H.
Histochemical studies of phosphatase and glycogen in fetal heads.
J. Dent. Res. 21, 519 (1942)

Hutton, W.E., J. Nuckolis
Frequency of ninhydrin staining in the enamel surfaces of completely uneruted, undecalcified human third molars in relation to the problem of caries suspectibility.
Oral surg., Oral Med., Oral Path. 4, 1451 (1951)

Irving, J.T.
Sudanopuil inclusions in ameloblasts, odontoblasts and cells of the oral epithelium.
Nature (London) 181, 569 (1958)

Kabat, E.A., J. Furth
A histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues.
Am. J. Path. 17, 303 (1941)

Leblond, C.P., L.F. Bélanger, R.C. Greulich
Formation of bones and teeth as visualized by radioautography.
Ann. New York Acad. Sci. 60, 631 (1955)

Leicester, H.M.
Biochemistry of the teeth.
St. Louis, The C.V. Mosby Company 1949

Lennert, K.
Die Histochemie der Fette und Lipoide.
Z. wissenschaftl. Mikrosk., mikrosk. Technik 62, 368 (1955)

Lipp, W.
Aminopeptidase in bone cells.
J. Histochem. Cytochem. 7, 205 (1959)

Majno, G., C. Rouiller
Die alkalische Phosphatase in der Biologie des Knochen gewebes.
Virchows Archiv 321, 1 (1951)

Morse, A., R.O. Greep
Alkal. glycerophosphat. in the developing tooth of the rat.
Anat. Rec. 99, 379 (1947)

Naujoks, R.
Histotopochemische Untersuchungen am Zahnorgan.
Dtsch. Zahn-, Mumd-, Kieferheilkd. 24, 265 (1956)

Pearse
Histochemistry, Theoretical and Applied.
J&A Churchill, Ltd., London 1960

Pearson, B.
Improvement in the histochemical localization of succinic dehydrogenase by use of nitroneotetrazolium chloride.
J. Histochem. Cytochem. 6, 2 (1958)

Pincus, P.
Dental physiology: vitality of teeth; respiration.
Australian J. Dentistry 57, 7 (1953)

Pioch, W.
Über die Darstellung saurer Mucopolysaccharide mit dem Kupferphthalocyaninfarbstoff Astrablau.
Virchoes Archiv 330, 337 (1957)

Pliess, G., H. Pflüger
Homologe Zahnkeimtransplantation und Zahnentwicklung.
Fankf. Z. Path. 70, 246 (1959)

Poole, D.G.F.
The formation and properties of the organic matrix of reptilian tooth enamel.
Quart. J. Microc. Science 98, 349 (1957)

Probst, J.
Vergleichende und funktionelle Untersuchungen über die Entwicklung des Schmelzorgans.
(I. Mikroskopische Anatomie und Gewebekorrelationen)
Verh. Anat. Ges. 52, 294 (1954)

Pugh, M.H., W.B. Savchuck
Suggestions on the preparation of undecalcified bone for microradiography.
Stain Techn. 33, 287 (1958)

Reith, E.J.
The ultrastructure of ameloblasts from the growing end of rat incisor.
Arch. Oral Biol. 2, 253 (1960)

Roche, J. M. Mourgue
First steps in the calcification of the teeth and the physiological role of phosphatase.
Compt. rend. Soc. Biol. 136, 325 (1942)

Roche, J., M. Mourgue
First stages in ossification of embryonic bone and the role of Phosphatase.
Compt. rend. 214, 809 (1942)

Rogers, H.J.
Concentration and distribution of polysaccharides in human cortical bone and the dentin of teeth.
Nature 164, 625 (1949)

Romeis, B.
Mikroskopische Technik.
Leibniz Verlag München 1948

Rosebury, T.
A biochemical study of the protein in dental enamel.
J. Dent. Res. 10, 187 (1930)

Rutishauer, E., G. Majno
Physiopathology of bone tissue: the osteocytesand fundamental substance.
Bull. Hosp. Joint Diseases 12, 468 (1951)

Ruyter, J.H.C., H. Neumann
A critical examination of histochemical demonstration of the alkaline phosphatase.
Biochem. et Biophys. Acta 3, 125 (1949)

Scarpelli, D.G., E.A.G. Pearse
Physical and chemical protection of cell constituents and the precise localization of enzymes.
J. Histochem. Cytochem. 6, 369 (1958)

Schajowicz, F., R.L. Cabrini
Histochemical demonstration of acid phosphatase in hard tissues.
Stain Techn. 34,59 (1959)

Sognnaes, R.F.
Microstructure and histochemical charcteristics of the mineralzed tissues.
Ann. New York Acad. Sci. 60, 545 (1955)

Sognnaes, R.F., D.B. Scott, M.J. Ussing, R.W.G. Wyckoff
Electron microscopy of the enamel of the teeth in various stages of development.
J. Dent. Res. 31, 85 (1952)

Sognnaes, R.F., L. Lustig
Histochemical reactions of the lamprey mouth.
J. Dent. Res. 34 132 (1955)

Stack, M.v.
Organic constituents of the Teeth.
Ph. D. Thesis. London Univ. London, 1952

Stack, M.V.
Hydrocyproline in enamel keratin.
Proc. Bone andToth Soc.;J.Bone & Joint Surg.35B,494 (1953)

Stack, M.V.
The chemical nature of the organic matrix of bone, dentin and enamel.
Ann. New York Acad. Sci. 60,585 (1955)

Sylveln, B.
Cartilage and chondroitin sulphate.II. Chondoitin sulphate and the physiologocal ossification of cartilage.
J. Bone and Joint Surg. 29 973 (1947)

Verne, J., R. Weill
Données histologiques nouvelles sur la genèse de la matrice proteiques des tissus durs de la dnet.
Presse méd. 61, 427 (1953)

Verne, J. R. Weill, O. De Charpal, P. F. Ceccaldi
Détection histochimique des Polysaccharides dans la genèse de la dent.
Société de Biologie 146, 1555 (1952)

Weizenberg,J.
Ein Versuch, die Anlage des Zahnkeimes in der noch einheitlichen Zahnleiste mit Hilfe der sauren Phosphatase aufzufinden.
Acta histochem.1 , 126 (1954)

Wislocki, G.B., M. Singer,C.M. Waldo
Some histochemical reactions of mucopolysaccharides,glycogen,lipids and other substance in teeth.
Anat. Record 1o1, 487 (1948)

Wislocki,G.B., R.F. Sognnaes
Histochemical reactions of normal teeth.
Am.J. Anat. 87, 239 (195o)

Danksagung

Herrn Professor Dr. med. Dr. h. c. Krauspe, Direktor des Pathologischen Institutes der Universität Hamburg, danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Institut.
Herrn Privatdozent Dr. med. Pliess danke ich für die Überlassung des Themas und für die Beratung bei der Abfassung der Arbeit.
Der medizinisch-technischen Assistentin, Fräulein Eddelbüttel, danke ich für die Durchführung der histochemischen Reaktionen und Färbungen.
Die Arbeit wurde mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Lebenslauf

Am 27. Mai 1937 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr. Achim Schlorf in Hamburg geboren. Nachdem ich mein Abitur am Wilhelm-Gymnasium zu Hamburg bestanden hatte, ging ich an die Universität Bonn , wo ich nach fünf Semestern mein Physikum bestand. Die ersten beiden klinischen Semester belegte ich an der Universität Hamburg. Im Wintersemester 1959/60 studierte ich an der Universität Freiburg. Danach kehrte ich wieder zur Universität Hamburg zurück und bestand hier am 23. 5. 1961 das zahnmedizinische Staatsexamen.

Druck: Photo-Copie GmbH Hamburg 1